

· 论著 ·

染色体微阵列技术在胎儿遗传学诊断中的应用

刘建生*

泰安市妇幼保健院产前诊断中心 (山东 泰安 271000)

【摘要】 **目的** 应用染色体微阵列分析技术(CMA),对符合产前诊断指征的孕中期胎儿羊水细胞遗传学诊断。**方法** 对2020年1月至2023年2月来本院就诊的675例18~27周孕妇,按照年龄组与诊断指征分组,抽取羊水,分别进行CMA检测及染色体核型分析。**结果** 本文共检出染色体异常157例,其中染色体非整倍体97例,检出率为23.3%(97/675),其中以无创产前DNA(NIPT)数目异常组为主,检出率55.6%(84/151);拷贝数变异(CNVs)60例,检出率为8.9%(60/675),其中明确致病35例,占58.3%(35/60),非明确临床意义型(VOUS)检出25例,占41.7%(25/60),以NIPT提示CNV异常组检出率最高,占13.8%(13/87)。年龄分组以≥35岁组与30-34岁组为多,分别占39.3%(265/675)与37.5%(253/675)。染色体非整倍体检出率20-24岁组最高,占21.7%(13/60),其次为≥35岁组,占17%(45/265)。20-24岁组与30-34岁组比较, $\chi^2=4.5$, $0.01<P<0.05$,两组比较有统计学意义。产前诊断指征中,NIPT提示胎儿染色体异常组检测人数最多,比占总数的35.3%(238/675),其中NIPT提示染色体数目异常检测率22.4%(151/675),异常检出率58.9%(89/151);超声软指标异常检出率17.6%(27/153),以NT/NF增厚为主,占软指标的37.0%(10/27)。**结论** CMA技术有效提高产前遗传病诊断率,尤其对高龄、超声与NIPT提示异常的诊断,降低出生缺陷发生率起到了重要作用。

【关键词】 染色体微阵列;核型分析;NIPT

【中图分类号】 R394

【文献标识码】 A

DOI:10.3969/j.issn.1009-3257.2023.06.041

Application of Chromosome Microarray Technology in Fetal Genetic Diagnosis

LIU Jian-sheng*

Tai'an Maternal and Child Health Hospital Prenatal Diagnosis Center, Taian 271000, Shandong Province, China

Abstract: **Objective** To apply chromosomal microarray analysis (CMA) to genetically diagnose amniotic fluid cytogenetic diagnosis of fetal amniotic fluid in the second trimester that meets the indications for prenatal diagnosis. **Methods** Among 675 pregnant women at the aged 18th~27th pregnancy weeks who came to our hospital from January 2020 to February 2023, amniotic fluid was extracted according to age group and diagnostic indication, and CMA detection and chromosome karyotype analysis were performed. **Results** A total of 157 cases of chromosomal abnormalities were detected in this paper, including 97 cases of aneuploidy, with a detection rate of 23.3% (97/675), among which the group with an abnormal number of non-invasive prenatal DNA detection (NIPT) stands out, with a detection rate of 55.6% (84/151). Copy number variations (CNVs) were detected in 60 cases, with a detection rate of 8.9% (60/675), of which 35 cases were clearly pathogenic, accounting for 58.3% (35/60), and 25 cases of variant of uncertain significance (VOUS) were detected, accounting for 41.7% (25/60), and the detection rate of CNV abnormal group was the highest with NIPT. 13.8% (13/87). The age groups were ≥35 years old and 30-34 years old, accounting for 39.3% (265/675) and 37.5% (253/675) respectively. The detection rate of chromosomal aneuploidy was highest in the 20-24 year old group, accounting for 21.7% (13/60), followed by the ≥ 35 year old group, accounting for 17% (45/265). Compared with the 30-34 year old group, $\chi^2=4.5$, $0.01<P<0.05$, the comparison between the two groups was statistically significant. Among the indications for prenatal diagnosis, NIPT indicated that the number of fetal chromosomal abnormalities was the largest, accounting for 35.3% (238/675) of the total, among which NIPT suggested that the detection rate of abnormal chromosome number was 22.4% (151/675) and the abnormal detection rate was 58.9% (89/151). The abnormal detection rate of ultrasound soft indexes was 17.6% (27/153), and NT/NF thickening was the main one, accounting for 37.0% (10/27) of the soft indexes. **Conclusion** CMA technology can effectively improve the diagnosis rate of prenatal genetic diseases, especially for the diagnosis of those who are with advanced age or abnormal ultrasound or NIPT, and reduce the incidence of birth defects.

Keywords: Chromosomal Microarray Analysis; Karyotype Analysis; NIPT

随着人们健康意识增强,保障下一代健康也越来越多人关注,高危孕产妇想生一个健康宝宝成为亟待解决的问题^[1]。CMA已是当前预防出生缺陷的一线产前检测方法^[2],染色体核型分析可发现染色体数目和结构异常,可检出9%~19%的异常^[3],对10Mb以下难以检出^[4],CMA检测弥补了核型分析的不足,可在全基因组范围内诊断染色体微缺失微重复及杂合性缺失,具有明显优势。

1 资料与方法

1.1 一般资料 2020年1月至2023年1月在本院产前诊断的孕妇675例,一例双胞胎,其余均为单胎,孕妇年龄为17岁~58岁,平均33.7岁,孕周18+1-27+4周,平均22周,患者均接受遗传咨询知情同意。

1.2 方法

1.2.1 样本采集 符合产前诊断指征的孕妇经过遗传咨询、知情同意,填写《知情同意书》包括孕龄、孕周、产前诊断指征等信息。产前诊断指征包括孕妇高龄、产前筛查高危、NIPT提示胎儿染色体异常、超声提示胎儿异常、夫妻双方有染色体异常或智力低下、辅助生殖、有遗传病家族史等。三年来对孕18-27周选

择染色体核型分析和CMA检测的675例孕妇进行了超声引导下羊膜腔穿刺,抽取羊水30mL/例以备检测。

1.2.2 样本检测 核型分析历经细胞培养、染色体收获、显带及染色后进行分析。CMA检测按照相关试剂盒说明书操作进行,依次为DNA的提取、酶切消化、连接、PCR扩增、纯化、片段化处理、标记、芯片杂交、洗涤及扫描。所采用微阵列芯片为Affymetrix公司的Cytoscan750KArray,通过实验室内部数据库及在线公共数据库进行查询,根据芯片扫描结果对染色体拷贝数变异的致病性进行分析。

1.2.3 结果判读 核型分析根据人类染色体命名国际规则(an international system for human cytogenetic nomenclature, ISCN) (2016版)报告结果。CMA芯片获取数据加载于ChAs v3.0软件进行结果判读。对结果大于200kb缺失及大于500kb的重叠片段进行分析报告。染色体拷贝数变异(copy number variations,CNVs)分析,DECIPHER\OMIM\DGV\ISCA\NCBI pubMed等数据库为参照,获得样品基因组DNA可能治病的变异信息,发放诊断报告,电话随访其妊娠结局。

1.2.4 统计学方法 用SPSS 17.0统计软件进行数据处理。样品间率的比较采用 χ^2 检验,以 $P<0.05$ 为差异有统计学意义。

【第一作者】 刘建生,男,副主任技师,主要研究方向:细胞遗传、分子遗传实验室诊断。E-mail: sdtsljs@126.com

【通讯作者】 刘建生

2 结果

本文675例样本中,共检出染色体异常157例,其中染色体非整倍体97例,检出率为23.3%(97/675),与染色体核型分析结果一致,其中包含一例X染色体嵌合体。其中以NIPT数目异常为主,检出率55.6%(84/151),也是染色体非整倍体主要检出组,占86.6%(84/97)。CNVs检出60例,检出率为8.9%(60/675),其中明确致病35例,占58.3%(35/60),VOUS检出25例,占41.7%(25/60)。以NIPT提示CNV异常组检出率最高,占13.8%(13/87)。

按照孕妇年龄分析:年龄17~58岁,平均33.7岁,分为五个年龄组统计分析,其中≥35岁组与30~34岁组为多,分别占39.3%(265/675)与37.5%(253/675)。染色体数目异常检

表1 产前诊断孕妇年龄分布(例, %)

年龄(岁)	<20岁	20~24岁	25~29岁	30~34岁	≥35岁
数目异常	1(9.1)	13(21.7)	12(13.9)	32(12.6)	45(17.0)
CNV异常	1(9.1)	5(8.3)	4(4.7)	13(5.1)	9(3.4)
例数	11(1.6)	60(8.9)	86(12.7)	253(37.5)	265(39.3)

表3 各产前诊断指征分布(例, %)

诊断指征	产筛高危	NT/NF增厚	超声软指标异常	超声结构异常	单纯高龄	NIPT数目异常	NIPT-CNV异常	其它	合计
异常总数	8(11.1)	10(18.9)	17(17.0)	1(11.1)	4(3.2)	89(58.9)	26(29.8)	2(2.6)	163
非整倍体	1(3)	3(5.7)	5(5.0)	1(11.1)	1(0.8)	84(55.6)	1(1.1)	1(1.3)	97
CNV异常	7(7)	7(13.2)	12(12.0)	0(0)	3(2.4)	5(3.3)	25(28.7)	1(1.3)	60
明确致病	6(8.3)	8(15.1)	11(11.0)	1(11.1)	4(3.2)	88(58.3)	13(14.9)	0(0)	131
VOUS	2(2, 8)	2(3.8)	6(6.0)	0(0)	0(0)	1(0.7)	12(13.8)	2(2.6)	25
总数	72	53	100	9	126	151	87	77	675

3 讨论

产前诊断作为预防出生缺陷的重要手段,近年来,CMA技术作为产前遗传病检测方法已经比较成熟,有效提高染色体异常检出率^[5]。随着国家二孩三孩政策放开,孕妇年龄逐渐增大,本文统计≥35岁与30~34岁组为主要检测人群,分别占39.3%(265/675)与37.5%(253/675),染色体异常检出率也为最高。因<20岁组人数较少,故对阳性率最高的20~24岁组与较低的30~34岁组比较, $\chi^2=4.5$, $0.01<P<0.05$,两组比较有统计学意义。20~24岁组为染色体异常高发年龄段,可能与优生保健意识与健康查体意识不强有关。本文统计表明大于25岁后,随着年龄增大,胎儿染色体病的发生率呈逐步增高趋势,详见表1。

染色体非整倍体:675例样本,染色体数目异常97例,以T21为主,检出41例,占42.3%(41/97),各类性染色体非整倍体52例,详见表2。非整倍体中,NIPT数目异常组检出率最高,检出染色体非整倍体84例,占86.6%(84/97)。异常检出率58.9%(89/151),是染色体非整倍体的主要检出组。且NIPT检测的普及,染色体异常检出率也持续升高^[6]。

CNVs:在产前诊断各指征中,CNVs检出60例,包括明确致病35例,占总人数的5.83%(35/675),本文表明CMA的检测提高了5.83%的胎儿致病性检出率,与吴莉等^[7]报道4.4%相符,包括常见的22q11.21缺失与重复综合征、4P16.3缺失综合征等。检出率最高为NIPT提示CNV异常组,检出25例,占41.7%(25/60),其中13例明确致病,占52%(13/26),所以NIPT提示CNV的变异,对缺陷儿的诊断也起到了重要作用。超声软指标异常也是重要检出人群,包括:侧脑室增宽、鼻骨缺失、单脐动脉、心室强回声等,尤其以NT/NF增厚居多。胎儿NT增厚与染色体异常和部分结构畸形密切相关^[8],本文胎儿NT/NF增厚异常检出率达18.9%(10/53),有报道NT染色体异常检出率达31.6%^[9]。随着NT厚度增加,胎儿染色体异常几率增加^[10,11],Maya等建议,在NT超过3mm时就应进行CMA检查^[12]。在NT/NF增厚组,CNV变异检出7例,5例明确致病,故此组人群也是CNVs的重灾区。

本文报告VOUS 26例,其中有14例进行了父母验证,其中12例遗传自父母一方,选择继续妊娠,2例新发突变引产,其余12例有1例失访,3例因有不同超声软指标异常引产,其余因无

出率20~24岁组最高,占21.7%(13/60),其次为≥35岁组,占17%(45/265),最小为<20岁组,仅检出1例,占9.1%(1/11)。20~24岁组与30~34岁组比较, $\chi^2=4.5$, $0.01<P<0.05$,两组比较有统计学意义。

按产前诊断指征分析:NIPT提示胎儿染色体异常组检测人数最多,比占总数的35.3%(238/675),其中NIPT提示染色体数目异常检测率22.4%(151/675),异常检出率58.9%(89/151);NIPT-CNVs检测率12.9%(87/675),异常检出率29.8%(26/87)。其次为超声诊断异常组诊断例数,超声软指标异常检出率17.6%(27/153),以NT/NF增厚为主,占软指标的37.0%(10/27),见表3。

表2 染色体数目异常分布表

	T21	T18	T13	45,X	47,XXX	47,XXY	47,XYY	合计
数量	41	3	1	2	16	27	7	97
比例(%)	42.3	3.1	1.0	2.1	16.5	27.8	7.2	100

遗传病家族史及超声未见明显异常继续妊娠,产后未见表现明显异常。随着样本数据的增大,对VOUS的判断要根据超声、胎儿磁共振等检测技术,并结合随访、家系分析等,给出遗传咨询建议,否则会造成病人心理压力大,导致不必要的引产。

本超声提示胎儿结构异常检出1例21三体,检出率11.1%(1/9),低于谭满胜等报道21.88%^[13],可能与样本量少有关。其他诊断指征有4例因辅助生殖诊断,3例孕妇本人唐氏综合症,5例夫妻双方有平衡易位染色体均未见明显异常,比理论上形成异常配子的几率低,是否在染色体减数分裂时存在其它分裂形式。

随着分子遗传学及相关诊断技术的不断进步,为临床复杂遗传病找到了病因,并对进一步优生优育起到了指导作用。对大于30岁、超声软指标异常、或提示胎儿染色体异常等高危孕妇一定要进一步产前诊断,可减轻家庭和社会负担,不可侥幸。

参考文献

- [1]姚润斯,马容,揭深秋,等.无创产前基因检测在胎儿性染色体疾病筛查中的应用[J].中国产前诊断杂志,2020,12(1):19-24.
- [2]Srebnia M, Boter M, Oudesluijs G, et al. Genomic SNP array as a gold standard for prenatal diagnosis of foetal ultrasound abnormalities[J]. Mol Cytogenet, 2012, 5(1): 14.
- [3]胡婷,王嘉敏,张竹,等.染色体微阵列分析技术在超声异常胎儿产前诊断中的应用[J].中华医学遗传学杂志,2017,6(34):317-320.
- [4]周月云,张庆娥,董晶晶,等.880例不同产前诊断指征孕妇羊水穿刺胎儿染色体核型的对比分析[J].中国现代医学杂志,2020,30(10):33-37.
- [5]染色体微阵列分析技术在产前诊断中的应用协作组.染色体微阵列分析技术在产前诊断中的应用专家共识[J].中华妇产科杂志,2014,49(8):570-572.
- [6]陈晓琴.NIPT在产前诊断中的应用[J].中华产前诊断杂志(电子版),2016,8(3).
- [7]吴莉,邓璐莎,朱晓丹,等.染色体微阵列芯片分析技术在产前诊断中的应用[J].中国妇幼保健,2018,33(1):139-141.
- [8]Souka AP, Von Kaisenberg CS, Hyett JA, et al. Increased nuchal translucency with normal karyotype[J]. Am J Obstet Gynecol, 2005, 192(4): 1005-1021.
- [9]倪梦瑶,李洁,朱湘玉,等.染色体微阵列分析在颈项透明层增厚胎儿产前诊断中的应用[J].中华医学遗传学杂志,2019,36(10):970-974.
- [10]杨培峰,单婉婉,张琳琳,等.染色体微阵列检测技术在NT增厚胎儿中的应用[J].临床检验杂志,2020,38(5):330-332.
- [11]王敏,王昊,毛爱芬,等.染色体微阵列联合核型分析在NT增厚胎儿的产前诊断研究[J].中国妇幼保健研究,2018,29(4):465-468.
- [12]Maya I, Yacobson S, Kahana S, et al. Cut-off value of nuchal translucency as indication for chromosomal microarray analysis[J]. Ultra sound Obstet Gynecol, 2017, 50(3): 332-335.
- [13]谭满胜,李祝坤,唐玉芬,等.染色体核型分析联合染色体微阵列分析技术在产前诊断中的应用价值[J].检验医学与临床,2022,19(15):2018-2111.

(收稿日期:2023-01-25)

(校对编辑:孙晓晴)